

## Tamizaje de sitio frágil en el cromosoma X en una población de retardados mentales

### Hallazgos preliminares

Dra. Isabel Castro y Dra. Patricia Cuenca

### Introducción

Se conoce como sitio frágil en el cromosoma X, a una constricción cerca del final del brazo largo, que deja una pequeña porción separada de un delgado tallo, del cuerpo principal del cromosoma. Este tallo a menudo se encuentra roto, pues su delgadez lo hace ser muy frágil (Figura 1). Mediante análisis citogenéticos de alta resolución, se ha localizado este sitio en la banda Xq27 (4) y en la nomenclatura citogenética (11) se designa como fra(X) (q27). Actualmente este marcador citogenético se reconoce como la anomalía cromosómica más común, después de la trisomía 21, entre los varones con retardo mental de etiología genética; y además se asocia con deficiencia mental en más de la mitad de los casos de mujeres portadoras. Se han descrito por lo menos 70 entidades nosológicas causadas por mutaciones ligadas al cromosoma X que se asocian a retardo mental. En la actualidad se denomina síndrome de Martin-Bell, al retardo mental ligado al X, en que se encuentra sitio frágil en este cromosoma, con o sin macro-orquidismo —Mc Kusick #30995— (15). Se ha encontrado un 80% de penetrancia en los varones (es decir, de 100 varones genéticamente susceptibles, o sea, portadores del marcador, sólo 80 manifiestan, de hecho, retardo mental) y cerca del 56% de las mujeres heterocigotas se reconocen fenotípicamente con expresión del marcador y mayor o menor grado de retardo mental (18, 19).

Algunos datos sobre prevalencia de fra(X) (q27) se pueden ver en el Cuadro 1.

El fenotipo clínico de los afectados con el Síndrome de Martin-Bell es el siguiente: (8, 15)

—Dismorfia facial característica que comprende frente ancha y abultada, nariz larga con puente nasal prominente, la cara es larga y angosta con cierto grado de hipoplasia maxilar e hiperplasia de mandíbula, con o sin prognatismo mandibular. El paladar generalmente es ojival y se ha visto paladar hendido en varios casos, lo mismo que hendiduras submucosas y de úvula. Pero el rasgo facial más común y evidente es orejas grandes y prominentes y puede presentarse en ausencia de uno o todos los anteriores descritos.

---

\* Instituto de Investigaciones en Salud (INISA) Universidad de Costa Rica.  
San José - Costa Rica.

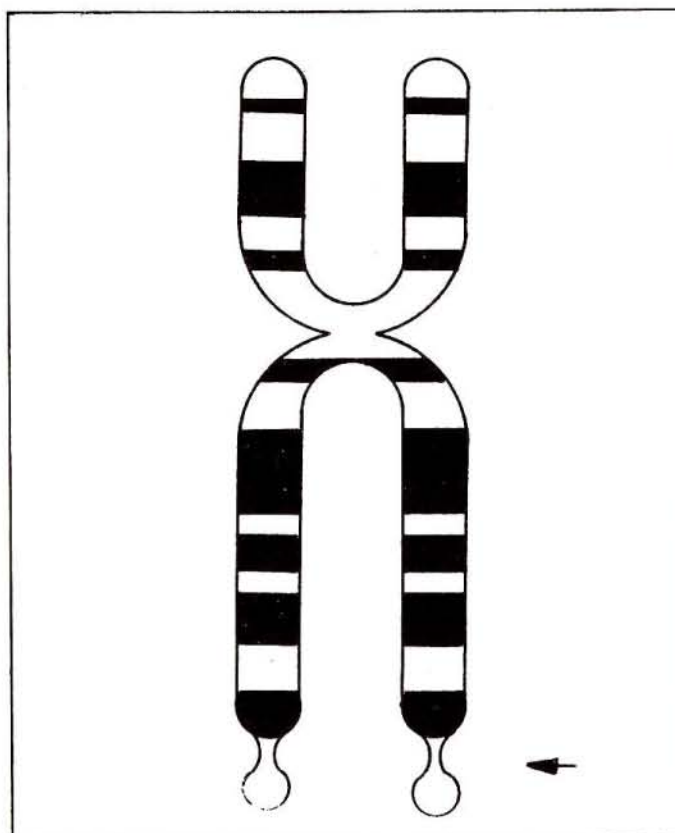


Figura 1: Representación esquemática del cromosoma X frágil.  
La flecha apunta hacia el sitio frágil.

—Volumen testicular aumentado en un hallazgo común, que se encuentra generalmente a partir de la pubertad, pero se han descrito casos de macro-orquidismo en lactantes (5). En jóvenes, se habla de macro-orquidismo cuando el volumen testicular excede 25ml. La fórmula para calcularlo es  $(\pi/6) (\text{ancho}^2) (\text{largo})$ .

La histología testicular no muestra grandes alteraciones, la espermatogénesis puede ser normal o disminuída.

—Retardo mental por lo general moderado, el coeficiente intelectual promedio es de 35 a 49, aunque el rango varía desde fronterizo hasta severo. La información retrospectiva que se tiene de estos pacientes, aunque escasa, apunta hacia un deterioro mental progresivo conforme el paciente envejece. Presentan además con frecuencia convulsiones o anomalías en el E.E.G., lo mismo que trastornos de conducta tipo hiperactividad, violencia, autismo o rasgos autistas y lenguaje irregular y cortante. Entre las mujeres existe gran variabilidad en el coeficiente intelectual, probablemente por el fenómeno de inactivación que sufre uno de los cromosomas X en la vida embrionaria. Las mujeres heterocigotas con inteligencia normal muestran tendencia

a portar al sitio frágil en el X de replicación tardía o inactivo y viceversa. Las mujeres con retardo mental muestran además algunas de las características fenotípicas que se encuentran en los varones (16).

—Laxitud ligamentosa, con articulaciones hiperextensibles y frecuente prolapso de la válvula mitral.

La anomalía cromosómica que afecta a estos pacientes, se observa en los linfocitos con variaciones extremas en los porcentajes de expresión, con un rango desde 5% hasta 60%. Incluso en el mismo paciente, este porcentaje puede variar de una fecha de examen a otra. El papel que juega el medio de cultivo en este problema es esencial: debe ser pobre en ácido fólico o contener un antagonista de folatos. Es también importante que aquellos pacientes que vayan a ser estudiados citogenéticamente interrumpen la ingesta de complementos vitamínicos con ácido fólico.

El síndrome de Martin-Bell por su gran importancia clínica es una patología que merece más estudio ya que se desconoce con qué frecuencia se presenta entre los retardados mentales de Costa Rica. Esta investigación se tiene en marcha en el INISA y de ella se presentan resultados preliminares en este artículo. El objetivo general de este estudio es detectar los individuos portadores del sitio frágil en el cromosoma X en una población de retardados mentales, definir sus características cito-

### Cuadro 1

#### Estudios de prevalencia de fra(X) (q27)

Investigadores	Retardados mentales estudiados	Con fra(X)*	Lugar	Año
Tuner et al. (20)	921**	40(4,3)	Australia	1986
Froster-Iskenius et al. (7)	242	15(6,2)	Alemania	1983
Kahkonen et al. (14)	150	6(4)	Finlandia	1983
Blomquist et al. (2,3)	206	11(5,3)	Suecia	1983
Jacobs et al. (12)	274	5(2)	Hawaii	1983
Arinami et al. (1)	243	13(5,3)	Japón	1986

\* Entre paréntesis el porcentaje de portadores de fra(X) (q27).

\*\* Con excepción de este grupo, los demás estudiaron sólo varones.



genéticas, psicológicas y clínicas, y buscar esta anomalía entre otros posibles portadores en cada una de sus familias, con el fin de proporcionarles asesoría genética acerca del riesgo de transmisión de deficiencia mental.

### Material y Métodos

#### Población de estudio

Son los niños y jóvenes retardados mentales que asisten al Centro Nacional de Educación Especial "Fernando Centeno Güell". Con el fin de iniciar la investigación entre los sujetos con mayor probabilidad de portar el marcador cromosómico, se dividieron en tres grupos para su estudio, después de una revisión de expedientes: 1) individuos de ambos sexos con historia familiar compatible con retardo mental ligado al X; 2) varones con rasgos faciales o alteraciones en la conducta como los del síndrome de Martin-Bell y 3) retardados de ambos sexos que no caben dentro de los grupos 1 ni 2, dando prioridad a aquellos en los cuales no existe patología orgánica evidente como causa de retardo mental y en quienes más bien la etiología es oscura.

#### Procedimientos de laboratorio

Se adicionaron 0,3 ml. de sangre periférica total, recogida en tubos heparinizados, a cada una de dos tubos con 5 ml. de medio cultivo 199 con 5% de suero fetal bovino (GIBCO) y suplementado con fitohemaglutinina y antibióticos en las concentraciones usuales. Estos tubos se incubaron durante 92 horas. Una hora antes de cosechar se agregó a cada tubo 0,1 ml. de una solución de colchicina cuya concentración es de 0,1 mg/ml. Se efectuó luego un choque hipotónico con KCL al 0,56% durante 10 minutos y se procedió a continuación a hacer tres fijaciones sucesivas con metanol y ácido acético glacial 3:1. Las preparaciones cromosómicas se secaron al aire. Los primeros casos se tiñeron con tinción convencional y se bandearon en caso de detectarse un sitio frágil en un cromosoma del grupo C compatible con el fra(X) (q). Actualmente se bandean todas (G.T.G.), después de secar las preparaciones frescas durante la noche a 60°C.

#### Análisis cromosómico

En los casos de los grupos 1 y 2 se analizaron un mínimo de 100 figuras y sólo se consideraron fra(X) (q) positivos aquellos con más de dos células con este marcador. En los pacientes del grupo 3 se estudiaron 30 células. Además en todos los casos se analizó el cariotipo completo de bandeo de al menos dos células.

#### Estudio de los pacientes positivos por X frágil

A estos individuos se les realiza un examen médico y una historia clínica completos, lo mismo que pruebas psicométricas (WISC-R, Bender y CAT), esto último por parte de la psicóloga de la escuela. Se les suministra tratamiento con ácido fólico de acuerdo a lo recomendado (8) por espacio de un mínimo de seis meses y al ca-

bo de este tiempo se repite la psicometría. El X frágil se busca además en los portadores posibles en cada una de las familias de estos pacientes y se les proporciona asesoría genética acerca del riesgo de transmisión de deficiencia mental. A los niños detectados hasta la fecha se les ha completado el análisis citogenético, el examen físico y el interrogatorio a la madre, el resto del estudio se está realizando en la actualidad.

### Resultados

#### Hallazgos citogenéticos

De los 56 niños estudiados hasta el momento, 38 varones y 18 niñas, 3 presentan fra(X) (q27), para una frecuencia de 5% . La mayoría de los sujetos investigados pertenecen a los grupos 1 y 2, recientemente se ha iniciado el estudio del grupo 3 (Cuadro 2). Los porcentajes de expresión de este marcador pueden verse en el Cuadro 3 y una fotografía del aspecto microscópico del mismo, en los cromosomas de los pacientes, en la Figura 2. Se encontró además en todos los pacientes estudiados gran cantidad y variedad de otros sitios frágiles diferentes al fra(X) (q27), los cuales no se han asociado con patología en la literatura actual (Figura 3). Esto se explica dadas las características del medio de cultivo usado, y de hecho, hemos decidido aceptar un mínimo de 4% de estos sitios frágiles en cada cultivo, como control de resultados falsos negativos, de acuerdo a los sugerido por Daniel y otros (6).

Cuadro 2

Número de individuos que pertenecen a cada uno de los grupos seleccionados

	Criterio de selección	Individuos*
Grupo 1	Historia familiar de retardo mental.	23(2)
Grupo 2	Rasgos faciales o de conducta sugestivos.	31(1)
Grupo 3	No seleccionados en grupos 1 ni 2.	2(0)

\* Entre paréntesis el número de individuos con fra (X) (q).

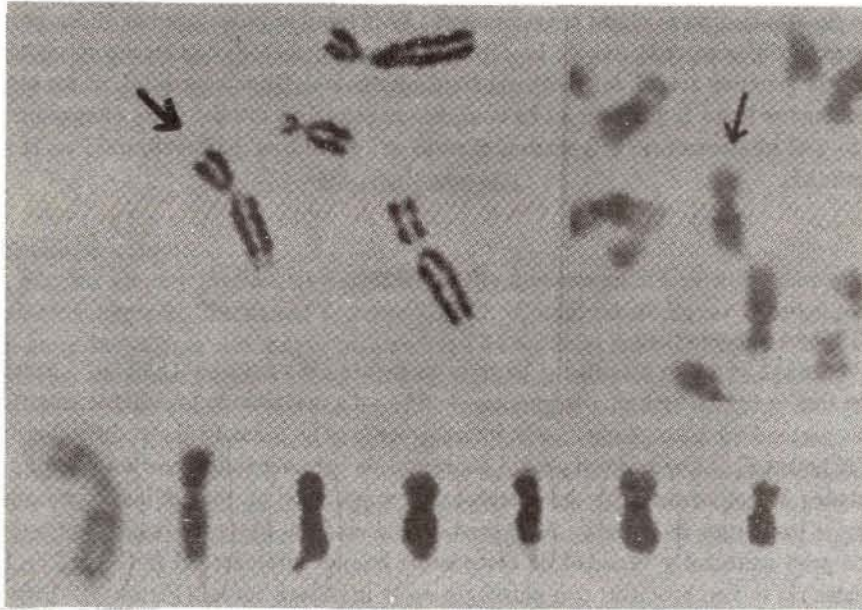


Figura 2: El sitio frágil en el X no siempre se puede apreciar tan claramente como se ve arriba a la izquierda, por lo general se rompe en una o ambas cromátidas y el o los fragmentos se desplazan a uno u otro lado del cromosoma, o se pierden y el X se observa "amputado" en q27.

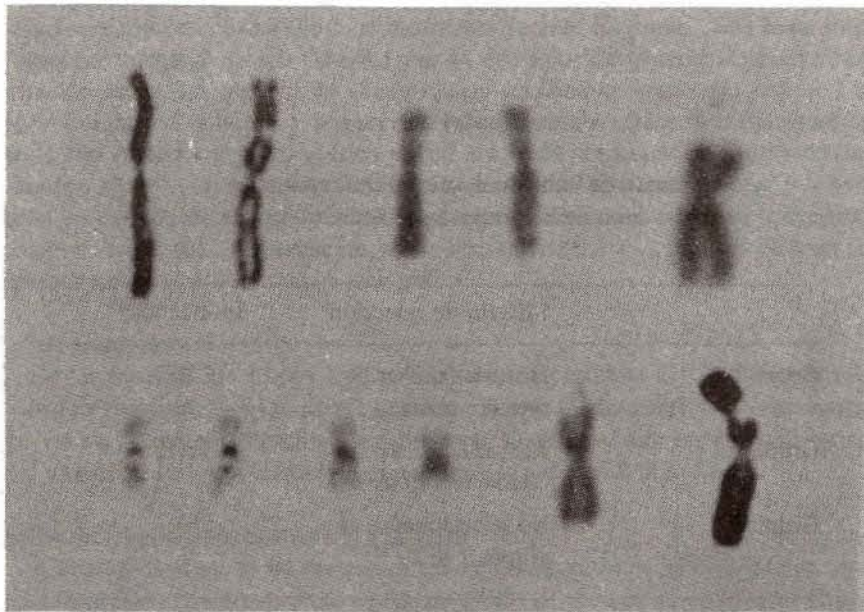


Figura 3: Sitios frágiles en otros cromosomas debidos al medio de cultivo deficiente en ácido fólico. En los pares cromosómicos se aprecia a la izquierda el homólogo normal.



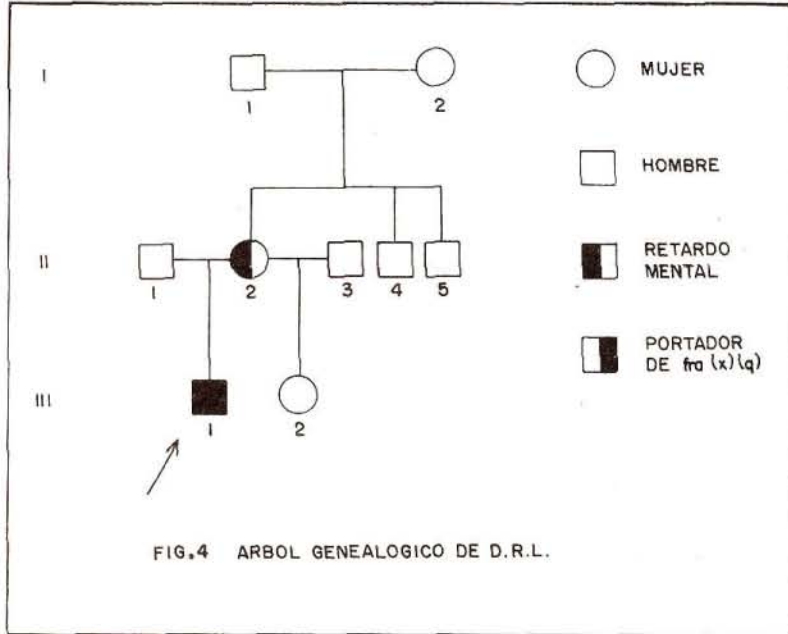


Figura 4: Arbol Genealógico de D. R. L.

**Cuadro 3**

**Características citogenéticas de los niños afectados**

Paciente	No. de células analizadas	Células con fra (X) (q27)*	Cariotipo
D.R.L.	200	11(5,5)	46, XY, fra(X) (q27)
R.Q.D.	100	9(9,0)	46, XY, fra(X) (q27)
W.M.C.	102	9(9,0)	46, XY, fra(X) (q27)

\* Entre paréntesis el porcentaje de células que expresan el marcador.

## CUADRO 4

## Algunas características clínicas de los niños afectados

Datos Clínicos	D.R.L	W.M.C.	R.Q.D.
Edad (años)	11	11	11
Talla (m)	1,39	1,23	1,42
Peso (kg)	31,0	24,1	51,1
Retardo mental	Moderado*	Severo*	Moderado*
Trastornos del lenguaje	±	+	±
Convulsiones	?	+	+
Hiperactividad	±	+	+
Automutilación	-	+	±
Cara larga y angosta	+	-	-
Frente ancha y abultada	+	-	-
Largo de oreja (cm)	6**	6**	6**
Puente nasal prominente	-	+	-
Hipoplasia maxilar	+	-	-
Hipoplasia mandibular	+	-	-
Paladar ojival	+	+	+
Pectus excavatum	-	+	-
Volumen testicular	10,47***	7,33***	23,55***

Los signos +: presente, -: ausente, ±: presente en forma leve u ocasionalmente, ?: desconocido.

\* Impresión clínica, de acuerdo al funcionamiento intelectual general y a la conducta adaptativa, ya que aun no se han realizado pruebas psicométricas en ellos.

\*\*Ligeramente superior a la media para la edad, pero dentro del rango normal (8).

\*\*\*Volumen sobre el percentilo 90, en relación a la edad (8).



## Hallazgos clínicos

El examen médico y el interrogatorio revelaron las características fenotípicas, tanto físicas como de comportamiento, presentes en estos niños con X frágil, las cuales se expresan de manera variable en relación a los datos clínicos de que informa la literatura (Cuadro 4). De los 3 niños afectados, dos se detectaron por el antecedente de historia familiar de retardo mental. En el caso de D.R.L. el núcleo familiar está compuesto por la abuela –cabeza de familia– la hija retardada mental, y los dos nietos: el caso índice y una niña de 6 años que aparentemente es, al igual que su abuela, de inteligencia normal (Figura 4). El estudio citogenético y psicométrico de estos individuos está por realizarse. La abuela niega que existan otros casos de retardo mental en la familia. El otro niño, R.Q.D. tiene un hermano y una hermana adolescente que, según refiere la madre, tiene cierto grado de retardo, completaron la escuela primaria sin problema y actualmente realizan oficios sencillos. Tiene además otra hermana menor que él, que estuvo también en la Escuela de Enseñanza Especial Centeno Güell y ahora está en aula diferenciada (Figura 5). La madre niega otros casos de deficiencia mental en la familia, pero al igual que en el caso

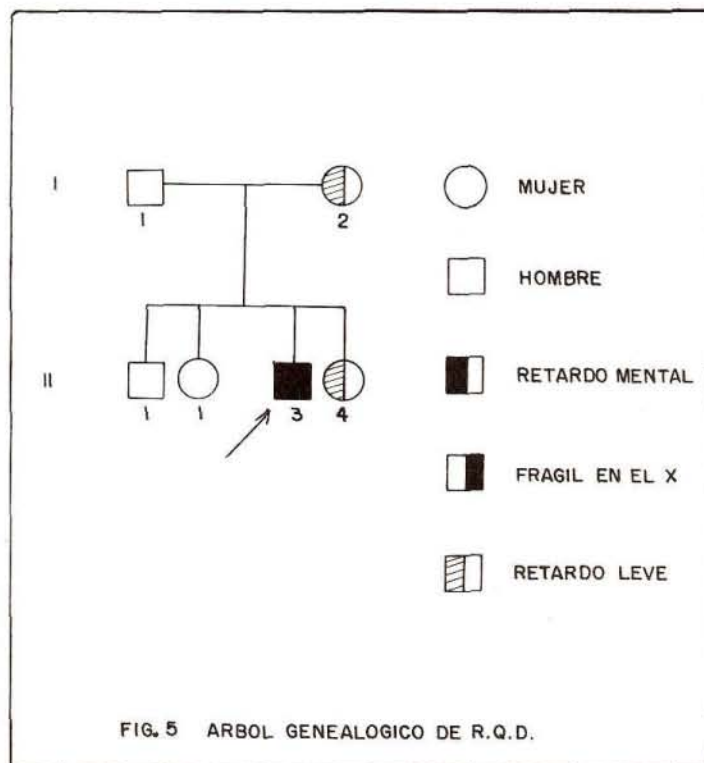


Figura 5: Arbol Genealógico de R. Q. D.

anterior, se extenderán los estudios psicométricos y citogenéticos al mayor número posible de parientes.

El tercer niño positivo, W.M.C., detectado por su dismorfia facial, estuvo en un orfanato hasta que fue adoptado a la edad de 4 años. La madre adoptiva informó que la madre biológica es o fue alcohólica, pero no tenemos más datos por el momento.

### Discusión

El retardo mental en Costa Rica es la segunda causa de minusvalía, después de las lesiones neuromúsculoesqueléticas (17). El diagnóstico preciso de anomalías cromosómicas en general y de sitio frágil en particular, como responsables de retardo mental, es sumamente importante para la prevención y rehabilitación o tratamiento del problema. La prevención primaria se puede lograr mediante consejo genético adecuado y oportuno, ya que al contrario de lo que sucede con el síndrome de Down, en el que la mayoría de los casos son esporádicos y el riesgo de recidiva es muy bajo, en el síndrome de retardo mental ligado al sitio frágil en el X, el problema se transmite de generación en generación. Los varones afectados lo transmiten a todas sus hijas y las mujeres heterocigotas a la mitad de su descendencia; de éstos, el 80% de los varones y el 30% de las mujeres, manifiestan franco retardo mental, según los cálculos de penetrancia (19). La asesoría genética que proporcione información acerca de los riesgos de ocurrencia o recurrencia de anomalía cromosómica y retardo mental, permitirá a las familias tomar decisiones referentes a sus planes de reproducción, y de este modo podrá prevenirse en muchos casos la concepción de individuos afectados. Para las mujeres heterocigotas que no desean abstenerse de procrear, existe la opción del diagnóstico prenatal y prevención post-concepción o secundaria (10, 13). En cuanto al tratamiento médico del síndrome de X frágil, los ensayos con altas dosis de ácido fólico han resultado promisorios, y aunque el número de casos tratados aún es relativamente pequeño y los estudios de este tipo tropiezan con muchas dificultades, los hallazgos preliminares apuntan hacia una mejoría en la función mental de muchos de los afectados o cuando menos, en el comportamiento anormal que muchos presentan (8). Es importante destacar, que los portadores de sitio frágil en el X, que reciben tratamiento con antagonistas de folatos se deterioran rápidamente a su inicio y la regresión clínica se revierte al finalizar éste; además, se ha observado que en tratamientos prolongados con ciertos anticonvulsivantes, los pacientes manifiestan retardo severo (8,9). Por este motivo, se recomienda en los pacientes portadores del marcador, evitar la deficiencia de ácido fólico inducida por drogas tales como drogas antineoplásicas tipo aminopterina y metrotexate, ciertas drogas antimaláricas o coadyuvantes de antibióticos como perimetamina y trimetoprim y ciertos anticonvulsivantes como fenitoína, primidona, barbitúricos e hidantoínas.

Es evidente que los pacientes que hemos detectado en este estudio y sus familias, se benefician enormemente del diagnóstico etiológico preciso de su retardo, con todas las implicaciones concomitantes, para el mejor manejo de estos casos. Tenemos pendientes de estudio a muchos niños de los grupos 1 y 2, además del 3, por lo tanto es probable que encontremos varios más, que resultarán igualmente beneficiados.

El diagnóstico es difícil para la mayoría de los clínicos, debido seguramente a la heterogeneidad de los rasgos fenotípicos de este síndrome. El grado de retardo mental en varones tiene un rango desde fronterizo hasta profundo. La conducta puede variar desde amistosa y cooperadora hasta autismo o violencia. Debido a este espectro tan amplio, la búsqueda de una etiología en cualquier paciente retardado mental, no estará completa, en tanto no se realice un análisis cromosómico en medio de cultivo deficiente en ácido fólico.

#### Agradecimiento

A todo el personal de Retardo Mental de la Escuela de Enseñanza Especial "Fernando Centeno Güell", en especial a su directora María Elena Muñoz y a las enfermeras Zulay de Hernández, Roxana Vargas Rojas y Rocío Quesada Corella. Agradecemos de igual manera a nuestros asistentes de investigación, Bernal Morera y María Santos por su valiosa ayuda, lo mismo que a Fernando Monge por su colaboración en la toma de muestras de sangre de los niños.

Los fondos para realizar este estudio provienen de la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, Proyecto No. 742-85-050.

#### Resumen

El sitio frágil del cromosoma X es la anomalía cromosómica más común, después de la trisomía 21, entre varones con retardo mental de etiología genética, y además se asocia con deficiencia mental en más de la mitad de los casos de mujeres portadoras. Este estudio es el primer intento de averiguar si sucede esto mismo en nuestro país, en una muestra de retardados mentales seleccionados. El tamizaje se está realizando en la Escuela de Enseñanza Especial "Fernando Centeno Güell" mediante análisis cromosómico de un mínimo de 100 figuras mitóticas de cada individuo, obtenidas del cultivo por 92 horas, de sangre periférica en medio 199 suplementado al 5% con suero fetal bovino. Los resultados preliminares obtenidos confirman la presencia de este marcador cromosómico también entre nuestros retardados mentales y con una frecuencia (5%) similar a la informada en la literatura. Las implicaciones concomitantes al diagnóstico del síndrome del X frágil son muy importantes en varios aspectos: la asesoría genética adecuada y oportuna podría pre-



venir en muchos casos la concepción de individuos afectados, el tratamiento con ácido fólico parece promisorio y por último, existe la opción del diagnóstico fetal y prevención post-concepción.

### Summary

Fragile X syndrome screening in a sample of 38 males and 18 females attending a special education school for mentally retarded individuals gave 3 (5% ) positive cases. The implications of this diagnosis in terms of clinical management and genetic counseling are improvement of mental capacity and behavioral characteristics after treatment with high doses of folic acid and possibility of avoidance of more affected individuals among the families detected through genetic counseling and prenatal diagnosis.

### Bibliografía

1. Arinami T. et al.: Frequency of the fragile X syndrome in Japanese mentally retarded males. *Hum. Genet.* 73: 309, 1986.
2. Blomquist H. et al.: Fragile site X chromosomes and X-linked mental retardation in severely retarded boys in a Northern Swedish county. A prevalence study. *Clin. Genet.* 21: 209, 1982.
3. Blomquist H. et al.: Fragile X syndrome in mildly mentally retarded children in a Northern Swedish county. A prevalence study. *Clin. Genet.* 24: 393, 1983.
4. Brookwell R. & G. Turner: High resolution banding and the locus of the Xq fragile site. *Hum. Genet.* 63: 77, 1983.
5. Carmi R. et al.: Fragile X syndrome ascertained by the presence of macroorchidism in a 5 month old infant. *Pediatrics* 74: 883, 1984.
6. Daniel A. et al.: Constitutive fragile sites 1p31, 3p14, 6q26 y 16q23 and their use as controls for false-negative results with the fragile (X). *Amer. J. Med. Genet.* 18: 483, 1984.
7. Froster I. et al.: Screening for fra(X)(q) in a population of mentally retarded males. *Hum. Genet.* 63: 153, 1983.
8. Hagerman R. & P. Mc. Bogg (eds): The fragile X syndrome. Diagnosis, Biochemistry and Intervention. Spectra Publ. Co., Dillon, Colorado, 239 p., 1983.



9. Hecht F, & T. Glover: Antibiotics containing trimethoprim and the fragile X chromosome. *New Engl. J. Med.* 308: 285, 1983.
10. Hogge W. et al.: Prenatal diagnosis of fragile (X) syndrome. *Obstet. Gynecol.* 63: 19S, 1984.
11. ISCN 1985. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature (1985). S. Karger. 117 p., 1985.
12. Jacobs P. et al.: A cytogenetic study of a population of mentally retarded males with special reference to the marker (X) syndrome. *Hum. Genet.* 63: 139, 1983.
13. Jenkins E. et al.: Experience with prenatal fragile X detection. *Amer. J. Med. Genet.* 17: 215, 1984.
14. Kahkonen M. et al.: Marker X-associated mental retardation. A study of 150 retarded males. *Clin. Genet.* 23: 397, 1983.
15. Opitz J. & G. Sutherland: Conference Report: International Workshop on the fragile X and X-linked mental retardation. *Amer. J. Med. Genet.* 17: 5, 1984.
16. Paul J. et al.: Heterozygous female carriers of the marker -X- chromosome: IQ estimation and replication status of fra(X) (q). *Hum. Genet.* 66: 344, 1984.
17. Registro Nacional de Minusválidos. Boletín Estadístico No. 19. Dic. 1986. Departamento Programas Sociales. Consejo Nacional de Rehabilitación y Educación Especial. Costa Rica.
18. Sherman S. et al.: The marker (X) syndrome: a cytogenetic and genetic analysis. *Ann. Hum. Genet.* 48: 21, 1984.
19. Sherman S. et al.: Further segregation analysis of the fragile X syndrome with special reference to transmitting males. *Hum. Genet.* 69: 289, 1985.
20. Turner G. et al.: Preventive screening for the fragile X syndrome. *New Engl. J. Med.* 315: 607, 1986.